

液相串联质谱法定量检测高密度脂蛋白中脂质类化合物

郭守东^{1,2}, 侯蓬勃³, 秦树存¹

(1.山东省高校动脉粥样硬化重点实验室 泰山医学院动脉粥样硬化研究所,山东省泰安市 271000;

2.潍坊医学院药学院创新药物研发中心,山东省潍坊市 261053;

3.哈尔滨商业大学理学院生命科学与环境科学研究中心,黑龙江省哈尔滨市 150028)

[关键词] 液相串联质谱法; 鞘脂; 鞘磷脂; 神经酰胺; 卵磷脂

[摘要] **目的** 本文旨在建立一种快速提取高密度脂蛋白(HDL)中脂质并结合液相串联质谱定性及快速定量检测的方法。**方法** 采用酸化甲醇沉淀结合超声萃取的方法抽提脂质,高速离心去除蛋白颗粒,取上清液,直接采用液相串联质谱在多反应监测模式下进行定量分析。**结果** 该分离提取脂质的方法简单迅速,采用多反应监测模式可同时定量监测 30 多种具有标准品的脂质成份,包括鞘氨醇类、鞘磷脂、神经酰胺和氧化型的卵磷脂。**结论** 酸化甲醇超声抽提离心法可简便迅速地获得 HDL 中的脂质成份,结合液相串联质谱可对 HDL 中的多种脂质进行定量检测,该方法具有高效、重现性好等优点,适用于大量液体生物样本的分析。

[中图分类号] R313

[文献标识码] A

Quantitative determination of lipid compounds in high-density lipoprotein by liquid chromatography tandem mass spectrometry

GUO Shoudong^{1,2}, HOU Pengbo³, QIN Shucun¹

(1.Key Laboratory of Atherosclerosis in Colleges and Universities of Shandong & Institute of Atherosclerosis, Taishan Medical University, Taian, Shandong 271000, China; 2.Innovative Drug Research Centre, School of Pharmaceutical Sciences, Weifang Medical University, Weifang, Shandong 261053, China; 3.Life Science and Environmental Science Research Centre, Faculty of Science, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150028, China)

[KEY WORDS] liquid chromatography tandem mass spectrometry; sphingolipid; sphingomyelin; ceramide; phosphatidylcholine

[ABSTRACT] **Aim** To establish a simplified method for extraction of lipids from high density lipoprotein (HDL), qualify and quantify lipids by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). **Methods** The acidic methanol precipitation combined with ultrasonic extraction method was used to extract lipids, and the supernatant after centrifugation was analyzed directly by LC-MS/MS with multiple reaction monitoring mode. **Results** The acidic extraction method was effective and time saving, and the established LC-MS/MS method using lipids standards could simultaneously quantify more than 30 kinds of lipids, including sphingolipid, sphingomyelin, ceramide and oxidized phosphatidylcholine. **Conclusions** Acidic methanol precipitation combined with ultrasonic extraction can effectively isolate lipids from HDL, and the extract after centrifugation can be determined by LC-MS/MS directly. This method is effective with good reproducibility, and is suitable for quick quantitative analysis of a great deal of biological liquid samples.

近年的许多研究表明:生物系统中的脂质是评价疾病的新型生物标志物,或者说,其为生物化学机制的一个重要途径。最初,人们对高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)研究的强烈兴趣主要

源于高密度脂蛋白胆固醇与心血管疾病风险的负相关性^[1-2]。近年研究表明:除胆固醇外,许多具有生物活性的脂质分布在 HDL 上,且这些脂质与多种疾病的发生发展密切相关^[3-4]。

[收稿日期] 2017-10-16

[修回日期] 2018-01-09

[基金项目] 国家自然科学基金(81770463, 81770855, 31300639); 山东省泰山学者岗专项基金(ts201511057)

[作者简介] 郭守东,博士,教授,研究方向为脂代谢异常与动脉粥样硬化,E-mail 为 SD-GUO@hotmail.com。通信作者秦树存,博士,教授,研究方向为动脉粥样硬化,E-mail 为 shucunqin@hotmail.com。

HDL 携带的脂质主要包括固醇、甘油三酯、脂溶性维生素和大量磷脂。磷脂是 HDL 脂质的主要成分,它们大约占脂质总量的一半。在 HDL 磷脂中,大约 70~80% 为卵磷脂 (phosphatidylcholine, PC),而 12%~14% 为鞘磷脂 (sphingomyelin, SM),包括 HDL 特异性携带的小分子鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P)。当然,一些微量的成分也存在,包括神经酰胺 (ceramide, Cer)、磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine)、磷脂酰乙醇胺 (phosphatidylethanolamine)、磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol)、糖鞘脂类 (glycosphingolipid)、神经节苷脂类 (ganglioside)、硫脂类 (sulfatide)、溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine)、溶血鞘磷脂 (lysosphingomyelin)^[5-7]。

业已证实 HDL 是由含不同蛋白成分的不同大小的颗粒构成的异质性大分子,HDL 的这种易变性对其脂质成分也同样适用。例如:不同的 HDL 颗粒含有不同种类的磷脂,而这些不同种类的磷脂则可反过来调节脂蛋白颗粒的特性^[5-7]。一种高效定量分析方法的建立,是探索 HDL 脂质构成与功能关系研究的必要手段。1995 年至今,国内外先后报道了不同的脂质定量检测方法,包括荧光试剂衍生后的高效薄层层析法、衍生后的高效液相色谱法、放射性受体结合实验等。衍生的方法费时费力且存在衍生不完全以及衍生产物不稳定等问题。目前,较为流行的方法是采用液相串联质谱 (liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 在多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM) 模式下进行定量分析。本文采用 LC-MS/MS 结合标准品和内标试剂,建立一种 HDL 所携带的脂质的快速检测方法。

1 材料和方法

1.1 材料

D-赤-鞘氨醇 1-磷酸 (S1P)、D-赤-二氢鞘氨醇 1-磷酸 (DH-S1P)、D-赤-鞘氨醇 (SPH)、D-赤-二氢鞘氨醇 (DH-SPH)、D-赤-C17-鞘氨醇 1-磷酸 (C17-S1P)、D-赤-C17-鞘氨醇 (C17-SPH)、1- β -乳糖 C12-神经酰胺 (Lactosyl-C12-Cer)、1- β -葡萄糖基 C12-神经酰胺 (glucosyl-C12-Cer)、C12-神经酰胺 1-磷酸 (C12-Cer-1P)、(d18 : 1/12 : 0) 鞘磷脂 [SM (d18 : 1/12 : 0)]、(23 : 0) 鞘磷脂 [SM (23 : 0)]、1-棕榈酰-2-(5'-氧代戊酰基)-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (POVPC)、1-棕榈酰-2-(5'-氧代壬酰基)-sn-甘油-3-

磷酸胆碱 (ALDO-PC)、1-棕榈酰-2-壬二酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (PAzPC)、1-棕榈酰-2-戊二酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (PGPC)、1-十六烷基-2-壬二酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (COOH-PC)、(E)-4R-羟基壬烯醛 (4-HNEDA) 等脂质标准品购于美国 Avanti Polar Lipids 公司。甲醇、乙酸和乙酸铵购于 Sigma(上海)贸易有限公司。本实验中的其他化学试剂均为分析纯。

1.2 HDL 的分离

正常血脂者(女性 5 名,平均年龄 50.4 \pm 3.9 岁)及高脂血症患者(女性 4 名,平均年龄 51.7 \pm 4.2 岁,甘油三酯>1.8 mmol/L,总胆固醇>6.5 mmol/L)血浆由泰山医学院附属医院提供。血浆合并后采用 Beckman 超速离心机以 393000 g 离心力离心 24 h,取上层得极低密度脂蛋白;剩余部分调节密度至 1063 g/L,393000 g 离心力离心 24 h,取上层得低密度脂蛋白;剩余部分调节密度至 1210 g/L,393000 g 离心力离心 24 h,取上层即得 HDL。HDL 经 PBS 透析后,测定蛋白含量,短期内可置 4 $^{\circ}$ C 冰箱中保存,长期保存可分装后置 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存且避免反复冻融^[8-9]。

1.3 HDL 的纯度验证

取 200 μ L 的 HDL(浓度约 7.0 g/L),按照 10 : 1 的比例加入苏丹黑(0.5 g 溶于 10 mL 70% 的乙醇中),置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中染色 30 min,2000 g 离心力离心 10 min。将离心上清液加入 50 μ L 饱和蔗糖溶液,取样 20 μ L 上样 0.5% 的琼脂糖凝胶,电压 120 V,水平电泳 30 min。

1.4 HDL 中脂质的提取

取 10~50 μ L 的 HDL(浓度约 7.0 g/L),加入终浓度为 100 μ g/L 的 C17-SPH、C17-S1P 和 Lyso SM (d17 : 1) 为内标,采用含有 0.1% 的乙酸的甲醇定容至 HDL 的 10 倍体积。混匀后超声提取 30 min,30000g 离心力高速离心 10 min,所得上清液直接上机检测^[10-11]。

1.5 LC-MS/MS 分析

LC-MS/MS 系统由岛津公司高效液相色谱仪 (LC-20AD、DGU-20A3 脱气机和 SIL-20AC 自动进样器)、AB SCIEX 公司的串联质谱仪 (4000 QTRAP) 和 PEAK 牌氮气发生器 (ABN2ZA) 组成。本实验中采用的色谱柱为 Waters C18 分析柱 (Waters Symmetry, 3.5 μ m, 2.1 mm i.d., \times 100 mm),同时配备 Waters 保护柱 (3.5 μ m, 2.1 mm i.d., \times 10 mm)。流速为 0.4 mL/min,进样量为 10.0 μ L。流动相 A 为含有 4 mmol/L 乙酸铵和 0.1% 乙酸的甲醇溶液;流动相 B 为含有 4 mmol/L 乙酸铵和 0.1% 乙

酸的水溶液。0.01~27.00 min; 10%B~1%B; 27.0~27.50 min; 1%B~10%B; 27.5~32.00 min; 10%B^[12]。

质谱采用电喷雾离子源 (ESI) 在正离子模式下进行检测。离子喷雾电压和温度分别设定为 5500 V 和 400℃。雾化气、辅助气、气帘气分布设定为 55、55、10 psi, 其中碰撞气设置为中等 (medium)。所有待分析脂质在 MRM 模式下完成定量, 数据分析采用 AB SCIEX 分析软件 V 1.6。

2 结果

2.1 LC-MS/MS 定量方法的设置

本研究中涉及的几种代表性脂质的结构如图 1 所示。本研究中所有脂质的定量均在正离子模式下完成, 每种被分析物优化后的质谱 MRM 条件及保留时间如表 1 所示, 斜体字显示的为相应被分析物的内标。

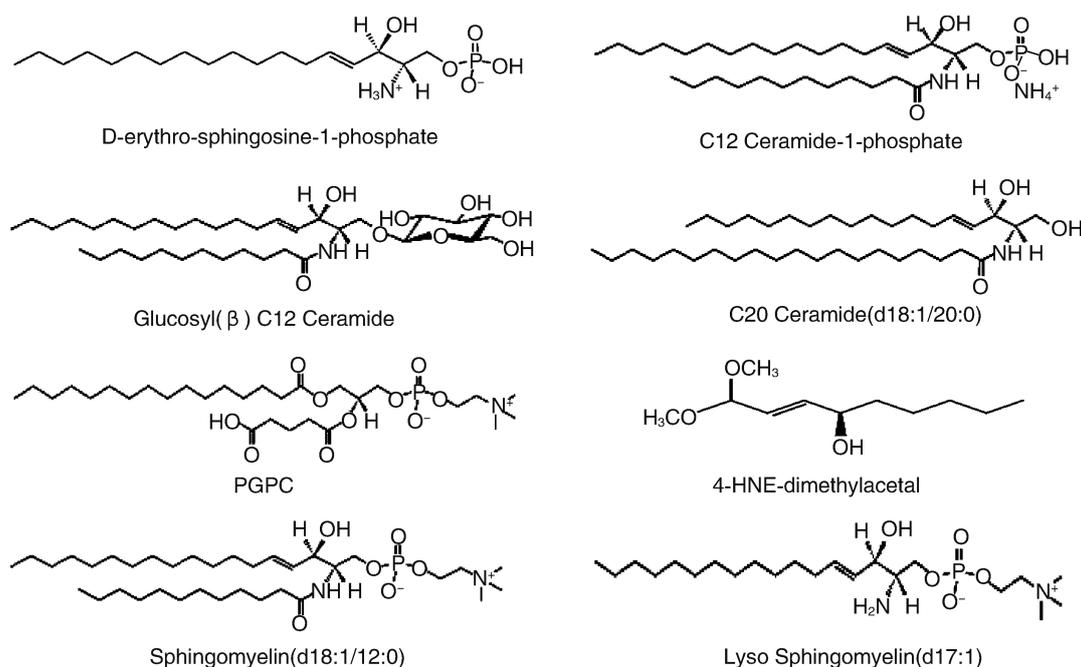


图 1. 几种代表性脂质的结构

Figure 1. Structural characteristics of several representative lipids

鞘氨醇类化合物的裂解模式已在我们前期发表的文章中阐释^[10-11], 在此不再赘述。如图 2 所示, 神经酰胺类化合物在正离子模式下容易产生去羟基峰, 裂解模式如图 2C 和 D 所示。鞘磷脂类化合物典型的碎片为 m/z 为 184.3 的峰 (图 3B 和表 1), 此碎片源于鞘氨醇 1 位连接的磷酸基的断裂。氧化卵磷脂也有类似的特征碎片峰 (表 1)。所检测化合物在进样量 0.1 ng 以上均有强的信号峰, 信噪比 (S/N) 在 10 以上。采用 100 ng/mL 的标准品进行日内精密度和日间精密度的考查, 结果显示 RSD (%) 均小于 4.5。采用酸化甲醇结合超声抽提和高速离心, 可有效提取 HDL 脂质, 且提取物在 LC-MS/MS 上具有很好的响应 (图 3E)。

2.2 HDL 中脂质的含量分析

琼脂糖电泳的结果表明, 采用密度梯度离心所得 HDL 的纯度良好 (图 4A); 由电泳图谱可知, 高脂

患者与正常血脂者的 HDL 的迁移率并不一致, 说明 HDL 的构成和性质已经发生了改变, 值得进一步深入研究。脂质分析结果表明, 5 种氧化型卵磷脂及脂质的氧化产物 4-HNE-DA 均可检出, 其中 PGPC、POVPC、ALDO-PC 和 4-HNE-DA 在高脂患者 HDL 中的含量均显著升高, 其中 ALDO-PC 的含量最高达 7.0 ± 0.7 微克/克蛋白 (图 4B)。鞘氨醇类的检测结果显示, SPH 和 DH-SPH 的含量在高脂患者 HDL 中的含量显著高于正常血脂者的 HDL (图 4C); HDL 是活性脂质小分子 S1P 的主要携带者^[9], S1P 虽然在高脂患者中达到 153.2 ± 7.8 微克/克蛋白, 但较正常血脂者的 132.1 ± 8.8 微克/克蛋白并无显著差异; 该分析结果与前期结果相近。在分析的 6 种神经酰胺中, 以 C24 神经酰胺的含量最高, 达 527.7 ± 26.9 微克/克蛋白, 其在两种 HDL 中的含量并无显著差异; 而高脂患者 HDL 中 C16、C18 和 C20 的含量显

显著高于正常血脂者;此外,所测定的 C12 神经酰胺 1-磷酸的含量在两种 HDL 中也无显著差异(图 4D)。在测定的 11 种鞘磷脂中,以 C20 : 1 和 C24-鞘磷脂的含量较高,分别为 24.5 ± 1.5 、 14.9 ± 0.7 毫克/克蛋白(图 4E);其中,高脂患者 HDL 中 C16 和 C24-鞘磷脂的含量显著高于正常血脂者。此外,神经节苷脂 GM1 在高脂患者和正常血脂者 HDL 中的

含量分别为 0.5 ± 0.1 、 0.4 ± 0.1 微克/克蛋白。本研究中,糖基化的神经酰胺 (Glucosyl-C12-Cer 和 Lactosyl-C12-Cer) 在该实验中的 HDL 中没有被检测到,这可能与本文中所用仪器的检测、提取方法、实验人群以及血浆的差异等多种因素有关;在以后的试验中,尚可采用优化的实验方法以及更多的实验样本继续考查。

表 1. 脂质定量分析的 LC-MS/MS 参数

Table 1. LC-MS/MS parameters for lipids quantitative analysis

名称	质量数转变 (Q1→Q3)	碰撞能量 (eV)	去簇电压 (V)	保留时间 (min)	名称	质量数转变 (Q1→Q3)	碰撞能量 (eV)	去簇电压 (V)	保留时间 (min)
SPH	300.4→282.4	15	75	0.86	C18-SM	732.0→184.3	35	120	15.17
DH-SPH	302.4→284.4	23	82	0.95	SM (d18:1/12:0)	647.6→184.2	28	136	7.08
C17-SPH	286.3→268.4	18	69	0.82	SM (18:0)	759.9→184.3	30	140	23.58
S1P	380.4→264.4	18	74	1.61	C20SM	800.0→184.3	35	115	17.02
DH-S1P	382.4→284.5	27	95	1.66	C20:1-SM	757.9→184.3	35	110	16.32
C17-S1P	366.4→250.4	17	75	1.55	C22:1-SM	785.9→184.2	35	120	20.39
C12-Cer	482.7→464.6	16	112	7.47	C22-SM	787.9→184.3	35	120	20.42
C14-Cer	510.8→492.7	15	80	11.26	C24:1-SM	813.9→184.3	35	110	26.13
C16-Cer	538.7→520.5	15	75	15.48	C24-SM	815.8→184.3	35	120	26.85
C18-Cer	566.6→548.6	16	56	19.78	Lyso SM (d17:1)	451.4→184.3	25	93	1.72
C20-Cer	594.7→576.7	15	90	23.80	POVPC	593.9→184.3	31	116	1.64
C24-Cer	650.8→632.8	18	75	28.63	ALDO-PC	650.6→184.3	33	122	1.72
Glucosyl-C12-Cer	644.6→264.5	45	87	5.68	PGPC	610.5→184.3	32	120	1.57
Lactosyl-C12-Cer	806.7→464.7	25	104	5.05	PAzPC	666.7→184.3	33	146	1.74
C12-Cer-1P	579.5→301.2	19	57	1.22	COOH-PC	652.6→184.3	32	117	2.11
C14-SM	675.4→184.3	35	120	10.18	4-HNEDA	203.2→157.2	6	29	0.77
C16-SM	704.0→184.3	35	110	14.55	Ganglioside GM1	1569.4→1278.9	66	265	22.50

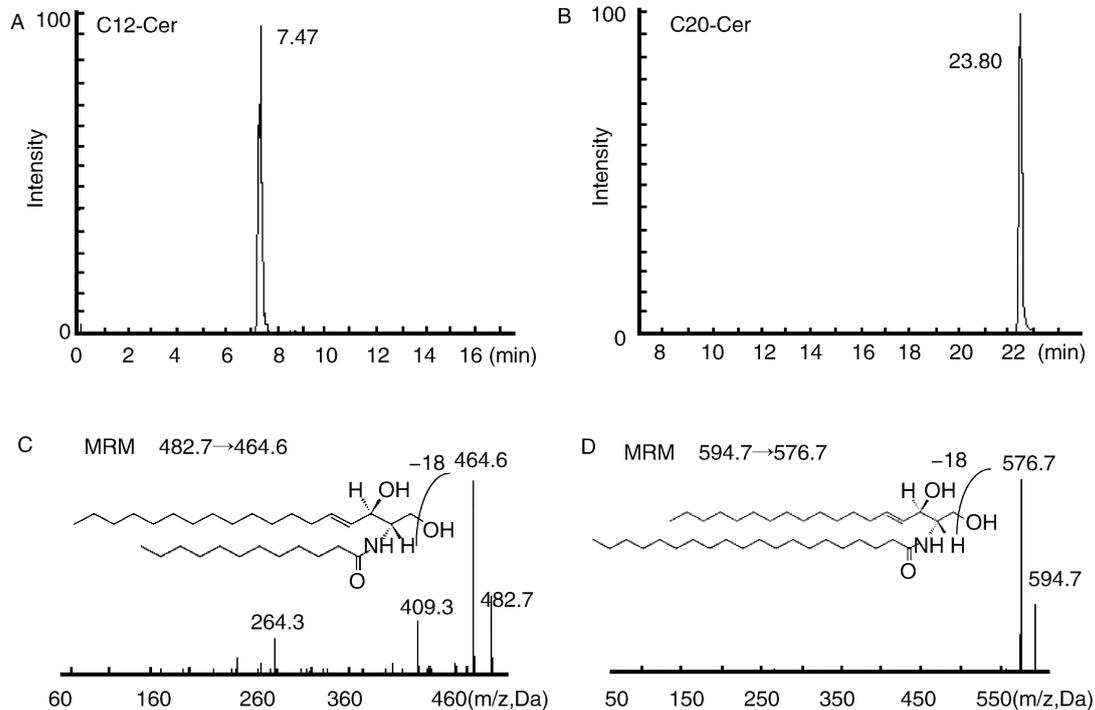


图 2. 两种神经酰胺的色谱图及其 MRM 碎片归属 A 为 C12-神经酰胺的色谱图, B 为 C20-神经酰胺的色谱图, C 为 C12-神经酰胺的 MRM 碎片归属, D 为 C20-神经酰胺的 MRM 碎片归属。

Figure 2. Chromatograms of two ceramide and their corresponding typical fragments

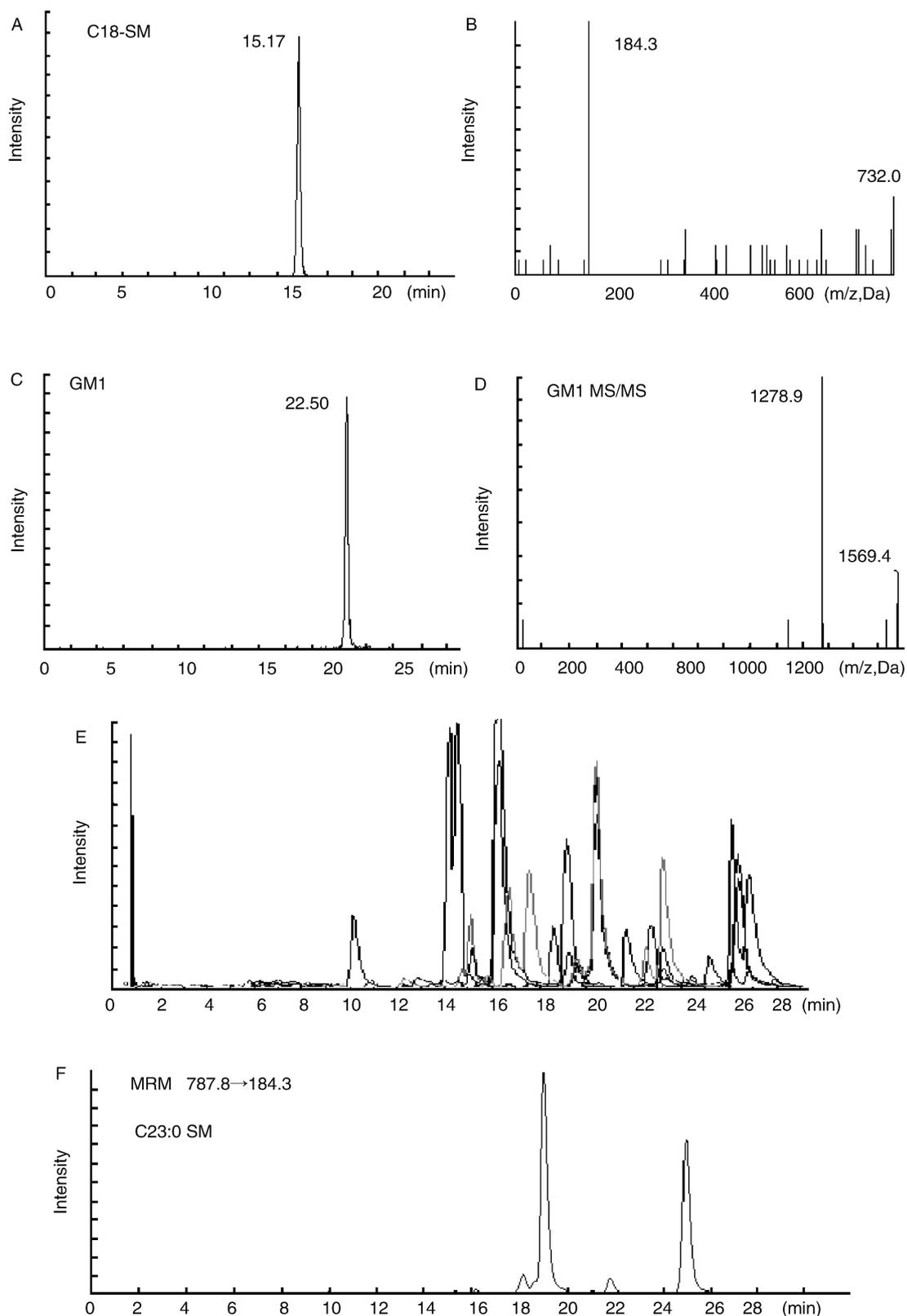


图 3. C18-鞘磷脂和神经节苷脂 GM1 的色谱图、MRM 碎片归属及 HDL 中脂质的典型色谱图 A 为 C18-鞘磷脂的色谱图, B 为 C18-鞘磷脂的 MRM 碎片归属, C 为神经节苷脂 GM1 的色谱图, D 为神经节苷脂 GM1 的 MRM 碎片归属, E 为 HDL 中脂质的典型色谱图, F 为 HDL 中 C23:0 SM 的色谱图。

Figure 3. Chromatograms of C18-sphingomyelin and ganglioside GM1 and their typical fragments, and the typical chromatogram of the lipids from HDL

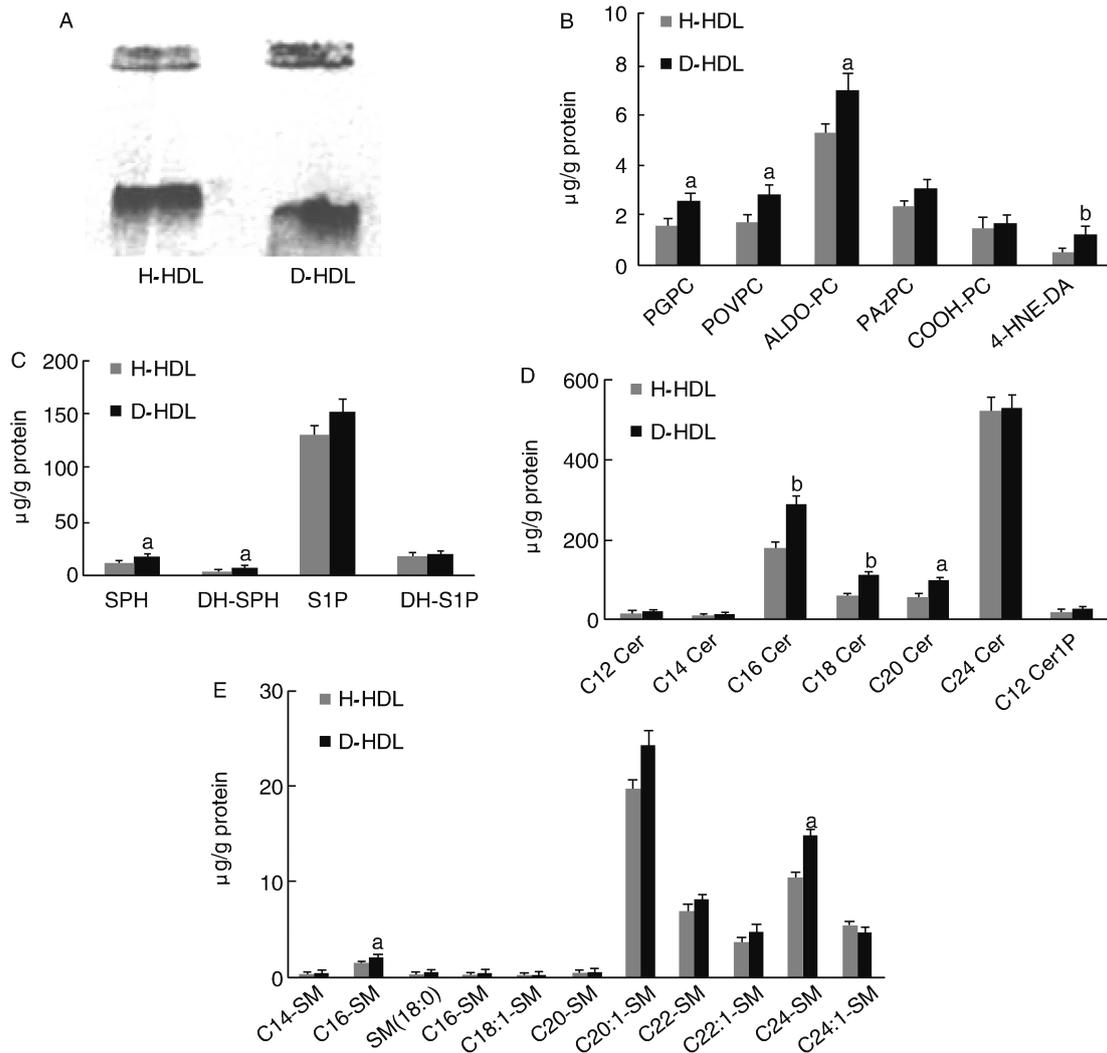


图4. 采用 MRM 模式定量分析 HDL 中脂质含量 A 为高密度脂蛋白琼脂糖电泳图谱, B 为氧化卵磷脂类含量, C 为鞘氨醇类含量, D 为神经酰胺类含量, E 为鞘磷脂类含量。H-HDL: 正常人高密度脂蛋白; D-HDL: 高脂血症患者高密度脂蛋白。a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与 H-HDL 比较。

Figure 4. Quantitative analysis of lipid content in HDL by MRM model

3 讨论

许多 HDL 的生物活性可归结于 HDL 脂质向细胞的传递,且这种传递处于动态平衡之中。一旦上述平衡被打破,机体的代谢平衡即会受到影响,进而诱发疾病;而疾病在发生发展过程中,亦会改变上述动态平衡。通过监测 HDL 上的脂质构成,可在一定程度上探索机体在疾病发生发展过程中的规律,甚至找到逆转疾病的新策略。本研究中,采用酸化甲醇沉淀结合超声提取的方法,可简单快捷地提取 HDL 中的脂质。样本中的蛋白经高速离心去除后,上清液可直接采用 LC-MS/MS 在 MRM 模式下定量检测。以单人操作 10 个以内样本为例,采用甲醇超声提取需要 30 min,而采用 Folch 法或 Bligh

Dye 法则通常需要 90 min 完成,且 Folch 法或 Bligh Dye 法需要多次转移提取液、离心和氮气吹干。该法较之前的 Folch 法或 Bligh Dye 法,可显著提高样本的处理效率。该法同样适用于其他液态生物样本中脂质的分析。

采用分子量相近的内标物标定被分析物是一种常见的、准确可靠的分析方法。本研究中采用此法测定的 SPH、S1P 和 DH-S1P 的含量与之前的报道相近;但神经酰胺、鞘磷脂和氧化型卵磷脂的标定都采用了 Lyso SM (d17 : 1) 同一种内标,势必会对最终结果造成一定的偏差。在本研究中,我们曾尝试以 C23-SM 为内标对 SM 进行分析,但在实验中发现样本中也存在较强的 m/z 与 C23-SM 相同的干扰峰(图 3F)。因此,最终没有采用 C23-SM 作为内

标(结果未展示)。在以后的分析中,应尽量选择与被分析物的分子量相近且结构类型相同的内标,特别是采用同位素标记物作为内标。此外,由于 HDL 中 C12-神经酰胺的自身含量较低,而糖基化的该化合物含量更少,本研究中并未检测到上述糖基化产物。再者,由图 3E 可知,在 2~5 min 之间并无被检测物 m/z 峰。因此,基于本文中所涉及脂质的分析,色谱柱的洗脱条件可进一步优化以缩短分析时间。再者,由本文研究结果可知,高脂血症 HDL 所携带的脂质较正常血脂者 HDL 有较大的改变。但本文的样本量较小,仅几例。倘若纳入几万例的样本量,进行比对分析,或可为高脂血症的发展进程提供相应的脂质标志物。

HDL 中的脂质远不止于本文中报道的 30 余种。由于多种脂质尚未标准化生产,将所有脂质全部购得以建立 MRM 定量方法并不现实。目前,有研究利用 LC-MS/MS 在正离子模式下采用中性丢失扫描和母离子扫描对脂质按照类别进行半定量分析^[13-14],也有报道直接采用酶学的方法对特异性脂质种类进行定量分析^[15]。在实际工作中,可将上述方法综合利用,以最大程度地阐释脂质改变对 HDL 或其他研究对象生理功能的影响。

[参考文献]

- [1] Miller GJ, Miller NE. Plasma-high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease[J]. *Lancet*, 1975, 1(7897): 16-19.
- [2] Rosenson RS, Brewer HB Jr, Ansell BJ, et al. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(1): 48-60.
- [3] Levy RI, Rifkind BM. The structure, function and metabolism of high-density lipoproteins: A status report[J]. *Circulation*, 1980, 62(4 Pt 2): IV4-IV8.
- [4] Navab M, Reddy ST, Van Lenten BJ, et al. HDL and cardiovascular disease: atherogenic and atheroprotective mechanisms[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(4): 222-232.
- [5] Hoofnagle AN, Vaisar T, Mitra P, et al. HDL lipids and insulin resistance[J]. *Curr Diab Rep*, 2010, 10(1): 78-86.
- [6] Zhang Y, Duan RD. Boswellic acid inhibits expression of acid sphingomyelinase in intestinal cells[J]. *Lipids Health Dis*, 2009, 8: 51.
- [7] Thomas A, Déglon J, Lenglet S, et al. High-throughput phospholipidic fingerprinting by online desorption of dried spots and quadrupole-linear ion trap mass spectrometry: Evaluation of atherosclerosis biomarkers in mouse plasma[J]. *Anal Chem*, 2010, 82(15): 6687-6694.
- [8] Tian H, Liu QC, Qin SC, et al. Synthesis and cardiovascular protective effects of quercetin 7-O-sialic acid[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 21(1): 107-120.
- [9] Guo SD, Yu Y, Zhang N, et al. Higher level of plasma bioactive molecule sphingosine 1-phosphate in women is associated with estrogen[J]. *BBA-Lipid Lipid Met*, 2014, 1841(6): 836-846.
- [10] 郭守东, 于杨, 冯蕾, 等. 液-质联用法对生物样本中鞘氨醇 1-磷酸的微量测定[J]. *中国动脉硬化杂志* [J], 2013, 21(4): 354-358.
- [11] 郭守东, 于杨, 冯蕾, 等. 液相串联质谱法同时定量检测生物样本中鞘脂类化合物[J]. *中国生物化学与分子生物学报* [J]. 2013, 29(11): 1082-1087.
- [12] Cui YJ, Hou PB, Li FH, et al. Quercetin improves macrophage reverse cholesterol transport in apolipoprotein E-deficient mice fed a high-fat diet[J]. *Lipids Health Dis*, 2017, 16: 1-7.
- [13] Camont L, Lhomme M, Rached F, et al. Small, dense high-density lipoprotein-3 particles are enriched in negatively charged phospholipids; relevance to cellular cholesterol efflux, antioxidative, antithrombotic, anti-inflammatory, and antiapoptotic functionalities [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(12): 2715-2723.
- [14] Hancock-Cerutti W, Lhomme M, Dauteuille C, et al. Paradoxical coronary artery disease in humans with hyperalphalipoproteinemia is associated with distinct differences in the high-density lipoprotein phosphosphingolipidome [J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 11(5): 1192-1200.
- [15] Yeang C, Qin S, Chen K, et al. Diet-induced lipid accumulation in phospholipid transfer protein-deficient mice: its atherogenicity and potential mechanism [J]. *J Lipid Res*, 2010, 51(10): 2993-3002.

(此文编辑 曾学清)